

jp2002272290/pn

L2 ANSWER 1 OF 1 JAPIO (C) 2004 JPO on STN  
ACCESSION NUMBER: 2002-272290 JAPIO  
TITLE: TRANSFORMED RICE  
INVENTOR: YAMATANI TOMOYUKI; NAKAJIMA HIROYUKI; SAITO KAZUSUE  
PATENT ASSIGNEE(S): JAPAN SCIENCE & TECHNOLOGY CORP  
PATENT INFORMATION:

PATENT NO	KIND	DATE	ERA	MAIN IPC
-----				
***JP 2002272290***	A	20020924	Heisei	A01H005-00

APPLICATION INFORMATION

STN FORMAT: JP 2001-79306 20010319  
ORIGINAL: JP2001079306 Heisei  
PRIORITY APPLN. INFO.: JP 2001-79306 20010319  
SOURCE: PATENT ABSTRACTS OF JAPAN (CD-ROM), Unexamined  
Applications, Vol. 2002

INT. PATENT CLASSIF.:

MAIN: A01H005-00  
SECONDARY: C12N005-10; C12N015-09  
INDEX: C12N005-10, C12R001:91

ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide transformed Indian-type rice  
transferred  
with the NADA- GOGAT gene of Japanese-type rice.  
SOLUTION: This transformed rice (or the tissue thereof) is Indian-type  
rice transferred with a polynucleotide encoding the NADA glutamic acid  
synthase (NADA-GOGAT) of Japanese-type rice, being characterized by  
having  
high NADA-GOGAT activity.  
COPYRIGHT: (C) 2002, JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-272290

(P2002-272290A)

(43) 公開日 平成14年9月24日 (2002.9.24)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト <sup>*</sup> (参考)
A 0 1 H 5/00		A 0 1 H 5/00	A 2 B 0 3 0
C 1 2 N 5/10		C 1 2 R 1:91)	4 B 0 2 4
15/09	Z N A	C 1 2 N 5/00	C 4 B 0 6 5
// (C 1 2 N 5/10		15/00	Z N A A
C 1 2 R 1:91)		C 1 2 R 1:91)	
審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 6 頁)			

(21) 出願番号 特願2001-79306(P2001-79306)

(22) 出願日 平成13年3月19日 (2001.3.19)

(71) 出願人 396020800

科学技術振興事業団

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(72) 発明者 山谷 知行

宮城県仙台市泉区南中山2丁目14-2

(72) 発明者 中嶋 啓之

宮城県仙台市青葉区梅田町2-19

(72) 発明者 斉藤 和季

千葉県八街市榎戸663-86

(74) 代理人 100093230

弁理士 西澤 利夫

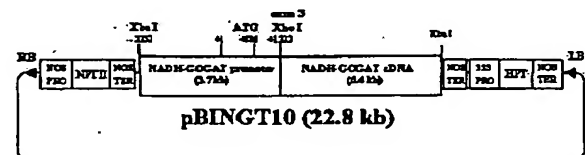
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 形質転換イネ

(57) 【要約】

【課題】 日本型イネのNADH-GOGAT遺伝子を導入した形質転換インド型イネを提供する。

【解決手段】 日本型イネのNADHグルタミン酸合成酵素 (NADH-GOGAT) をコードするポリヌクレオチドが導入されたインド型イネであって、高いNADH-GOGAT活性を有することを特徴とする形質転換イネまたはその組織。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 日本型イネのNADAグルタミン酸合成酵素（NADA-COGAT）をコードするポリヌクレオチドが導入されたインド型イネであって、高いNADA-COGAT活性を有することを特徴とする形質転換イネまたはその組織。

【請求項2】 ポリヌクレオチドが、NADA-COGAT遺伝子のプロモーター領域を構成するポリヌクレオチドと、NADA-COGAT cDNAとの融合ポリヌクレオチドである請求項1の形質転換イネまたはその組織。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】この出願の発明は、日本型イネのNADA-COGAT遺伝子によって形質転換されたインド型イネに関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、窒素利用効率に優れ、高い収量が期待される形質転換インド型イネに関するものである。

【0002】

【従来の技術】植物にとって窒素は必須の栄養素であり、窒素代謝はその個体維持や種の継続のために不可欠の生理過程である。

【0003】日本型イネ（ササニシキ等）の穂を構成する全窒素の8割は老化器官からの転流（リサイクル）によるものである。師管を介して転流する窒素形態はグルタミンとアスパラギンであるが、グルタミンに関しては、老化器官では細胞質型グルタミン合成酵素（GS1）が、また登熟初期の穂や若い葉身ではNADAグルタミン酸合成酵素がグルタミンの合成と再利用反応の鍵を握っている。

【0004】この出願の発明者らは、ササニシキ（*Oryza sativa*）のNADA-COGAT遺伝子とそのcDNAを単離し、その構造を報告している（*Biochim. Biophys. Acta.* 1387: 298-308, 1998）。また、NADA-COGAT遺伝子の5'上流域（3.7kbpまたは142bpまで）がプロモーター活性を有することを見出している（*Aust. J. Plant Physiol.* 27: 787-793, 2000）。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】インド型イネ（インディカ）は全世界的に広く栽培され、遺伝的変異が多様であるために、日本型イネ（ジャポニカ）にはない有益な遺伝形質（例えば、耐病虫性、耐塩性、耐乾性、光合成能、半矮性など）を有するが、米の収量の点で日本型イネに劣っている。このことは、インド型イネの多くが日本型に比べて老化葉身のGS1含量は高いが、NADA-COGAT含量が低いことが原因の一つとして考えられる。NADA-COGAT活性が低いことによって窒素転流効率が低く、そのために穂の形成が効率的に行われていないためである。

【0006】高いNADA-COGAT活性によって窒素転流効率の優れたインド型イネ品種が得られれば、米の収量を大きく向上させ、世界的な食料問題の解決に大きく貢献する。また、そのような品種を日本型イネと交配すること

などによって、互いの優れた形質を共有する新しいイネ品種の作出も期待される。

【0007】この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、日本型イネのNADA-COGAT遺伝子によって形質転換されたインド型イネを提供することを課題としている。

【0008】

【課題を解決するための手段】この出願は、前記の課題を解決するための発明として、日本型イネのNADA-COGATをコードするポリヌクレオチドが導入されたインド型イネであって、高いNADA-COGAT活性を有することを特徴とする形質転換イネまたはその組織を提供する。

【0009】また、この形質転換イネまたはその組織においては、ポリヌクレオチドが、NADA-COGAT遺伝子のプロモーター領域を構成するポリヌクレオチドと、NADA-COGAT cDNAとの融合ポリヌクレオチドであることを好ましい態様としてもいる。

【0010】なお、この発明の形質転換イネまたはその組織は、ポリヌクレオチドを導入したプロトプラスト、カルス、再生個体（初代植物）およびその子孫植物、さらには植物個体から単離された植物組織（根、茎、葉等）および種子が含まれる。

【0011】以下、この発明の実施形態について詳しく説明する。

【0012】

【発明の実施の形態】この発明の形質転換インド型イネは、日本型イネ由来のNADA-COGATをコードするポリヌクレオチドが形質導入され、野生型よりも高いNADA-COGAT活性を有することを特徴とする遺伝子導入（トランスジェニック）イネである。この形質転換イネは、その高いNADA-COGAT活性によって、穂や葉身における窒素転流効率に優れ、米の高い収量が可能となる。

【0013】NADA-COGATコードするポリヌクレオチドは、日本型イネのNADA-COGATの遺伝子断片（ゲノムDNA断片）、mRNA、cDNA等を用いることができる。この出願の発明者らによって、ササニシキのNADA-COGAT遺伝子のゲノム構造（GenBank accession No. AB001916）およびcDNA（GenBank accession No. AB008845）が公知とされており、これら公知の塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドをプローブとして、他の日本型イネのゲノムDNAライブラリーやcDNAライブラリーをスクリーニングすることによって目的とするポリヌクレオチドを単離することができる。また、オリゴヌクレオチドをプライマーとして、日本型イネ細胞から抽出したmRNAを鋳型とするRT-PCRによってcDNAを得ることができる。

【0014】ポリヌクレオチドは、例えばcDNAを用いる場合には、植物で機能するプロモーター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス（CaMV）35Sプロモーター等）と連結してベクターに組換え、形質転換に用いることができる。また、NADA-COGAT遺伝子のプロモーター領

10

20

30

40

50

域のポリヌクレオチドを連結するようによい。例えば、ササニシキ由来のNADA-GOGAT遺伝子プロモーターは、GenBank accessionNo. AB001916の位置1~3726に存在するので、この領域を適当な制限酵素で切り出し、cDNAと連結して用いるようにする。

【0015】ポリヌクレオチドを導入するインド型イネは、実施例で示したカラサスのほか、IR24、キンスラボロI、テバI、グルースディック等を対象とすることができ。

【0016】イネの形質転換は、公知のエレクトロポレーション法 (Nature 338:274, 1989)、アグロバクテリウム法 (Plant J. 6:271, 1994) またはパーティクルガン法 (Plant Cell Rep. 14:586, 1995) により行うことができる。ただし、形質転換の効率等を考慮した場合には、実施例に示したようなアグロバクテリウム法を採用することが好ましい。

【0017】以下、実施例を示してこの出願の発明についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。

【0018】

【実施例】実施例1：形質転換用ベクターの構築  
プロモーター活性を有するササニシキNADA-GOGAT遺伝子の5'上流域-2,352から第3エクソン上のXhoIサイト+1,322まで (GenBank accession No. AB001916の位置1~3726まで) のDNA断片 (約3.8kbp) と、NADA-GOGAT cDNAの蛋白質翻訳領域 (GenBank accession No. AB008845の位置263~6762) のDNA断片 (約65kbp) とを連結して約10kbpの融合DNA断片とし、これをインサートとする組換えベクターを構築した。具体的には、以下のとおりとした。

【0019】NADH-GOGAT遺伝子5'上流域-2840bpのSalIサイトから3'下流+2370bpのBamHIサイトまでの領域がpBluescriptII SK(-)のSalI-BamHIサイトに挿入されているゲノムクローンを+1322のXhoIサイトで切断し脱リン酸化した。NADH-GOGAT cDNA全長 (7047 bp) がpBluescriptII SK(-)のEcoRIサイトに、EcoRI-NotI-SalIアダプターが両端に付加された状態で挿入されているcDNAクローンをXhoIで切断したDNA断片を調製し、両者でライゲーション反応を行った。このpBluescriptII SK(-)上に構築した2つのDNA断片を連結した融合遺伝子は、ゲノムクローン由来のNADH-GOGAT遺伝子5'上流域-2840bpから第3エクソン上の+1322 XhoIサイトの下流にXhoIサイトから3' poly(A)配列までのcDNAを連結した約10 kbの融合遺伝子である。この融合遺伝子はXbaIにより5'上流-2352bp以下Poly(A)配列までの蛋白質翻訳領域全長を切り出すことができる。そこで遺伝子をXbaIで切り出し、バイナリーベクターpBI101Hm (Aust. J. Plant Physiol. 27: 787-793, 2000) からGUS遺伝子を取り除いたベクターのT-DNAのカナマイシン耐性遺伝子とハイグロマイシン耐性遺伝子の間に挿入し、バイナリーベクターpB

INGT10 (図1参照) を構築した。

実施例2：形質転換インド型イネの作出

以下の方法により、センスNADA-GOGAT cDNAがコードする蛋白質を発現する形質転換インド型イネ (カラカス) を作出した。

(1) アグロバクテリウムの形質転換方

凍結融解法に基づき、無菌的な操作によってアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* EHA101) を形質転換した。すなわち、実施例1の構築したベクター (pB INGT10) 1 $\mu$ g (2~10 $\mu$ l) を、氷上に置いたエッペンドルフチューブ内の凍結状態のアグロバクテリウムコンピテントセルに乗せるように加えた。エッペンドルフチューブに蓋をして、37°Cのウォーターバス中で正確に5分間インキュベートした。その後、チューブを氷中に移し1分冷却した。50 $\mu$ g/mlのカナマイシンを含むYEP培地1mlを加え、26°Cで2時間培養した。室温7500rpmで30秒間遠心した後、菌体を回収した。50 $\mu$ g/mlのカナマイシンを含むYEP培地100 $\mu$ lを加え菌体を溶解し、全量をカナマシとハイグロマイシンをそれぞれ50 $\mu$ g/mlの濃度で含むYEP固形培地に塗布した。培地全体に菌体を広げて、26°C暗所でシングルコロニーができるまで48~72時間培養した。

(2) 種子の選抜

前年度に収穫し塩水 (比重1.14) により選抜した後、4°Cに保存してあるカラサスの完熟種子を用いた。小型初すり機で完熟種子の粉を除去し、ひびや傷の入っていない種子を選別した。選別した約1000粒ほどの種子を、20粒ずつ50mlのファルコンチューブに入れて蒸留水にてゴミや埃を洗い落とした。

【0020】以下、密閉系以外はクリーンベンチ内において室温で無菌的に操作を行なった。また、試薬はオートクレーブ滅菌か濾過滅菌し、器具は乾熱滅菌した物を用いた。

(3) 種子の滅菌

洗浄した種子を新しい滅菌ファルコンチューブに移し、70%(v/v)エタノールを40ml加え1分間ゆっくりと振盪してアルコール殺菌を行なった。エタノールを捨てSDWにて同様に洗浄した後、再び新しいファルコンチューブに種子を移し、50 $\mu$ lのTween-20を含む40mlの2%次亜塩素酸ナトリウム溶液を40ml加えて、20分間穏やかに振盪して滅菌を行なった。滅菌後、種子をSDWで1分×3回、液を交換して洗浄し完全に塩素を除いた。

(4) カルスの誘導

滅菌種子をシャーレ (直径9cm) に移し、滅菌したピンセットにて1粒ずつN6CI培地 (N6 callus induction) [N6 salts and vitamins (Sci. Sinica 18: 659-668, 1975), 30g/l sucrose, 2mg 2,4D, 0.3g/l casamino acid, 2.8g/l proline, 2g/l Gellum Gum (関東化学), pH5.8] に4種子/シャーレ (直径5cm) ずつ置床し、サージカルテープ (Micropore Surgical Tape, 3M社、カタログN

0.1530-0)でシールして、26°C明所で3週間培養した。

#### (5) カルスの前培養

2週間培養した完熟種子の胚盤由来カルス以外の部分をピンセットで除去し、カルスのみを新しいN6 callus induction培地に4種子/シャーレ(直径5cm)で置床しサージカルテープでシールして、26°C明所で3日間前培養した。

#### (6) アグロバクテリウムの培養

アグロバクテリウムの50%グリセロールストック(-80°C)をミクロスパーテルでかき取り(山盛り1杯ぐらい)、AB固形培地(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71: 3672-3676, 1974) [3g/l  $K_2HPO_4$ , 1g/l  $Na_2SO_4$ , 1g/l  $NH_4Cl$ , 0.3g/l  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.15  $KCl$ , 0.01g/l  $CaCl_2$ , 2.5mg/l  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 5g/l glucose, 15g/l agar, 50mg/l Kanamycin (明治製菓), 50mg/l HygromycinB (Boehringer Mannheim), 15g/l Bacto Agar (DIFCO) pH7.2]上に先のミクロスパーテルでまんべんなく塗布した。培地全体に菌体を広げてサージカルテープでシールし、26°C暗所で3日間培養した(カルスの前培養と平行して行なった)。

#### (7) アグロバクテリウムの感染・共存培養

##### (7)-1:アグロバクテリウム感染溶液の調製

AB培地上のアグロバクテリウムを葉さじで約 $0.8 \times 2.5 \text{ cm}^2$ (シャーレの底に裏から黒インクでマークするとよい)かき取り、アグロバクテリウム懸濁培地(AAsuspension) [AA salts and amino acids(Plant Sci. 41: 179-183, 1985), 85vitamins (Exp. Cell Res. 50: 151-158, 1968), 20g/l sucrose, 2mg/l 2,4D, 0.2mg/l kinetin, 10mg/l Acetosyringone, pH5.8]30mlに懸濁しよく攪拌した後(液体が白濁する)、シャーレ(直径9cm)に全量移した。

##### (7)-2:感染

前培養した4シャーレ(16種子分)のカルスを、30 $\mu\text{m}$ のナイロンメッシュのついたガラスの筒(直径3cm、高さ6cm)に入れ、感染溶液中に浸し1.5分間軽く振盪した。浸漬後、滅菌したペーパータオル(キムワイプ)上に2分間筒ごと乗せて余分な水分を除去し、滅菌濾紙を敷いたN6共存培養培地(N6 co-culture) [N6 salts and vitamins, 30g/l sucrose, 10g/l glucose, 2mg/l 2,4D, 1%(w/v) glucose, 10mg/l Acetosyringone, 2g/l Gellum Gum (関東化学), pH5.2]に16種子分のカルスを置床し、サージカルテープでシールし、26°C暗所で3日間共存培養した。

#### (8) アグロバクテリウムの除去

除菌溶液[500mg/l Carbenicillin (Pfizer) in SDW]を、30mlずつ50mlのファルコンチューブに分注した。その中に、アグロバクテリウムを感染させたカルスを1シャーレ(16種子)すべて移した。しっかりと蓋をしてサージカルテープ(2cm幅)でシールし、振とう培養機に真横に設置し、5分間振盪洗浄した。液が白く濁ったら

洗浄液を代えて、この操作を5回程繰り返した。滅菌キムワイプ上で、2分間余分な水分の除去を行なった。この時点で洗浄液の白濁はほとんど確認されないが、もし目視できる程度に菌が確認されたら(細かい塵のようなもの、未使用の洗浄液と比較するとよい)さらに除菌を繰り返した。

#### (9) 選抜

選抜は、形質転換体の選抜の為のハイグロマイシンと、除菌のためのカルベニシリンを含む2種類の培地を用いて行なった。

【0021】まず、除菌したカルスをピンセット(新しく滅菌したもの)で、500mg/lの濃度でカルベニシリンを含むN6選抜培地(N6 selection) [50mg/l HygromycinB in N6CI]に9種子/シャーレ(直径9cm)で置床し(このとき細かいカルスも残さずに置床した)、サージカルテープでシールし、26°C明所で2週間培養した。培地は1週間ごとに新しく更新した。

【0022】2週間後、カルスの増殖の是非に関わらず全てのカルスを、250mg/lの濃度でカルベニシリンを含むN6選抜培地(N6 selection) [50 $\mu\text{g/ml}$  HygromycinB in N6CI]に置床し、同様にサージカルテープでシールし、26°C明所で培養を継続した。1週間ごとに培地を更新した。

#### (10) 再分化

##### (10)-1:地上部

選抜培地上で増殖してきたカルスのみをMS再分化培地(MS regeneration) [MS salts and vitamins (Physiol. Plant. 15: 473-492, 1962), 30g/l sucrose, 30g/l sorbitol, 2g/l casamino acid, 1mg/l NAA(Wako), 2g/l BAP (Wako), 50 $\mu\text{g/ml}$  HygromycinB, 250mg/l Carbenicillin 4g/l Gellum Gum, pH5.8]に置床し(1カルス/シャーレ)、サージカルテープでシールし、26°C明所で再分化を行なった。これより、1つの細胞から増殖してきたと見られるカルス群を1系統と数え、各系統のカルスが混合しないように1シャーレには1カルスを置く事とした。1週間ごとに培地を更新し、緑化のみられてきた部分は、なるべく培地に接触するように置床しなおした。なお、MS培地の salt stock solutionはムラシゲ・スクーグ培地用混合塩類(和光)1袋を500mlの蒸留水に溶解し、2 $\times$  stock solutionとした。

##### (10)-2:地下部

再分化幼植物が3~5cmになったら、そのシャーレ上の再分化幼植物の一群を地上部と根が切れないように注意しながら2本のピンセットで分割し、MS hormonefree培地 [MS salts and vitamins, 30g/l sucrose, 50mg/l HygromycinB, 0.8% Agar (植物組織培養用:Wako), pH 5.8]20mlを分注した植物培養用の試験管に移植した。蓋を閉め26°C明所で再分化を行なった。培地の水分が枯れない用に適時水を補充した。培地上1cm程度を水で満たした。水が枯れる頃にはしっかりした植物体になっており、培

地への水の補充は無菌状態では行わなかった。各系統3～7個体を移植した。但し、1系統は1つのカルス由来の個体群とした。

#### (11) 馴化

再分化個体の地上部が5 cm以上に成長し、根も培地上にしっかりと伸びたのを確認できた後、温室内への馴化を段階に分けて行なった。まず、フタを開け植物培養用試験管中の培地が枯れないように水で満たし、保護ビニールをかけて、適当な大きさになるまで7～10日間馴化を行った。馴化はP1レベルの温室(MCB200:日本医科器械製作所)内で行ない、環境条件は明期14時間(AM5:00～PM7:00) 26°C、暗期10時間23°Cとした。

#### (12) 水耕栽培

馴化を終えた再分化個体は、P1温室内で水耕栽培を行った。水耕栽培の最初の1週間は根が発達するまで保護ビ\*

\* ニールをかけて行なった。水耕液(Plant Physiol. 73: 1002-1007, 1983)は、水耕栽培を開始した日を1日目とし、1-14日目、15-28日目、29-42日目、43日目以降と4つの段階に分けて、2週間ごとに、下記の組成の1/4、2/4、3/4、4/4、の強度で水耕液を調整して用いた。また、随時水耕液の補充を行い、組成の変化を調整するため1週間ごとに水耕液全量を交換した。43日目以降は強度4/4のものを随時補充した。特に登熟初期は水耕液の減少が激しいので、収穫を行なうまで頻繁に水耕液を補充した。なお、水耕液(4/4)の組成は表1に示したとおりである。1N HClにて、pH5.2に調整した市水を使用した。

【0023】

【表1】

Major elements	Minor elements
1.0mM : $\text{NH}_4\text{NO}_3$	50 $\mu\text{M}$ : $\text{H}_3\text{BO}_3$
45 $\mu\text{M}$ : Fe - EDTA	9 $\mu\text{M}$ : $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
0.6mM : $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.3 $\mu\text{M}$ : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
0.3mM : $\text{K}_2\text{SO}_4$	0.7 $\mu\text{M}$ : $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
0.3mM : $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1 $\mu\text{M}$ : $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0.4mM : $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	

#### 【0024】実施例3

実施例1で作出した形質転換イネ(当代)について、抗NADA-COGAT抗体(Plant Physiol. 98: 1317-1322, 1992)を用いた抗体法によってNADA-COGAT蛋白質発現量を調べた。

【0025】結果は表2に示したとおりであり、形質転換イネ(センス)は、野生型カラカスおよび対象(NADA 30-COGAT遺伝子を保有しないpBBI101Hmを導入したイネ)と比較して、NADA-COGAT蛋白質の発現量が約45%増加し ※

※た。また、比較としてフェレドキシン依存型COGATの発現量を抗体法により測定したが、表3に示したようにその発現量には有意な差は認められなかった。

【0026】以上の結果から、実施例2で得られた形質転換イネが、高いNADA-COGAT活性を有することが確認された。

【0027】

【表2】

野生型	5.97 ± 0.76	$\mu\text{g protein / g fresh weight}$	(n=3)
対照	5.60 ± 1.49		(n=3)
センス	8.74 ± 1.71		(n=9)

#### 【0028】

★ ★ 【表3】

野生型	5.91 ± 0.64	$\mu\text{g protein / g fresh weight}$	(n=3)
対照	6.99 ± 1.94		(n=3)
センス	6.67 ± 1.69		(n=9)

#### 【0029】実施例4

実施例2の形質転換イネを、実施例2(12)と同様にして120日間栽培し、穂数、一穂当たりの粒数、千粒重、主幹の穂重量、草丈をそれぞれ計測した。

【0030】結果は表4に示したとおりであり、この発明の形質転換イネは、野生型および対象と比較して、顕☆

40☆果の千粒重と主幹の穂重量(収量)が約30%増加した。

この結果から、この発明の形質転換イネからは高い収量が得られることが確認された。

【0031】

【表4】

材料 (n=3)	穂数	一穂当たりの粒数	千粒重 (g)	主幹の穂重量 (g)	草丈 (cm)
野生型	6 ± 1	120 ± 20	10.2 ± 2.3	1.43 ± 0.29	133.8 ± 5.9
対照	8 ± 2	128 ± 18	10.3 ± 1.7	1.50 ± 0.34	128.3 ± 9.5
センス	7 ± 1	125 ± 8.6	13.3 ± 2.9	1.88 ± 0.29	130.5 ± 9.0

【0032】

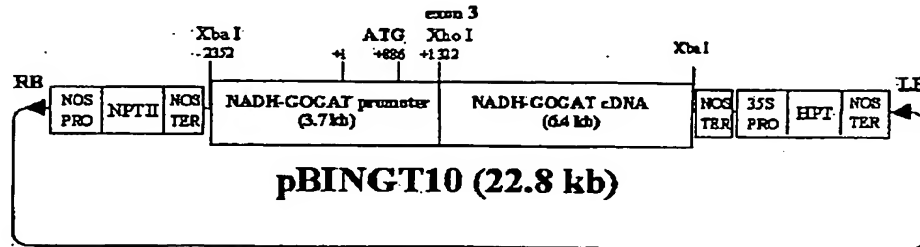
【発明の効果】以上詳しく説明したとおり、この出願の発明によって、日本型イネのNADH-GOGAT遺伝子を導入した形質転換インド型イネが提供される。この形質転換イネは、野生型インド型イネに比較して高いNADH-GOGAT活性を有することによって効率的に窒素転流を行うことが\*

\*でき、それによって高い米収量を実現するコトが可能である。この形質転換イネは食料の増産や、新しいイネ品種の作出に大きく貢献する。

【図面の簡単な説明】

【図1】形質転換のための組換えベクターpBINGT10の構成を示した模式図である。

【図1】



フロントページの続き

F ターム(参考) 2B030 AA02 AB02 AD08 CA06 CA17  
 CA19 CB02 CD03 CD07 CD10  
 CD13 CD17 CD21  
 4B024 AA08 BA07 BA79 CA04 DA01  
 DA05 EA04 FA02 GA11 GA17  
 GA19 GA27  
 4B065 AA11X AA88X AA88Y AB01  
 AC14 BA02 BA25 BC31 BC46  
 BD50 CA27 CA53